

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

Display 1/5/1
DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2002 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

000507989

WPI Acc No: 1966-08531F/ 196800

Flavonoid complexes

Patent Assignee: US VITAMIN CORP (USVI)

Number of Countries: 002 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
-----------	------	------	-------------	------	------	------

FR 1331910	A				196800	B
------------	---	--	--	--	--------	---

JP 63011139	B				196801	
-------------	---	--	--	--	--------	--

Abstract (Basic): FR 1331910 A

Process for the separation of flavonoids from non-flavonoids contained in cerate fruit extractives.

The syrup or liquor expressed from cerate fruits is submitted to simultaneous extraction with a 2-phase solvent comprising (i) n-butyl alcohol satd. with water and (ii) water satd. with n-butyl alcohol. The 2 layers of the extract are separated. The flavonoids are contained in the BuOH layer and are recovered by distillation of the solvent. The non-flavonoids are contained in the aqs. layer. Examples of flavonoids are:- hesperidin, naringine, diosmine, eriodictine, tangeretine, nobiletine and catechin.

Title Terms: FLAVONOID; COMPLEX

Derwent Class: B00

File Segment: CPI

- end of display -

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE
SERVICE
de la PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

BREVET D'INVENTION

P.V. n° 838.442

Classification internationale



N° 1.331.910

B 01 d

Procédé pour l'extraction sélective d'un complexe hydrosoluble de substances flavonoïdes.

Société dite : U.S. VITAMIN & PHARMACEUTICAL CORPORATION résidant aux États-Unis d'Amérique.

Demandé le 13 septembre 1960, à 14^h 11^m, à Paris.

Délivré par arrêté du 4 juin 1963.

(Bulletin officiel de la Propriété industrielle, n° 28 de 1963.)

La présente invention concerne un procédé pour l'extraction sélective de mélanges complexes de flavonoïdes normalement peu solubles ou insolubles dans l'eau, à partir de matières premières d'origine végétale et plus particulièrement à partir d'agrumes.

Des sources utilisables de substances flavonoïdes sont constituées par les agrumes. Le fruit dans son entier, son jus, sa peau ou les déchets tels que les liqueurs de pressage ou les mélasses dérivant du traitement des agrumes peuvent servir en pratique de sources de flavonoïdes.

Plus d'une substance flavonoïde peut se trouver dans le même fruit, et bien que les glucosides de flavanones que sont l'héspéridine et la naringine, soient considérés comme les plus communs, d'autres sont présents, certains d'ailleurs non identifiés jusqu'à présent, et comprennent les glucosides et les aglycones de flavones, flavonols, flavanones et flavanonols. D'autres substances, chimiquement apparentées aux flavonoïdes, comme les cathéchines et les coumarines sont également présentes. Les flavonoïdes identifiés ci-après se présentent certainement dans les agrumes : héspéridine, naringine, diosmine, néo-héspéridine, ériodictine, tangerétine, nobiletine et catéchine.

Il est bien connu que les mélanges complexes de substances flavonoïdes peuvent être solubles dans l'eau en dépit du fait que les flavonoïdes pris individuellement sont insolubles ou seulement légèrement solubles dans l'eau. Cette solubilité dans l'eau est un phénomène caractéristique et dérive donc de l'association des divers constituants du mélange. Il est très désirable de pouvoir séparer les mélanges hydrosolubles de leurs impuretés naturelles car cette propriété des mélanges d'être solubles dans l'eau est utile dans de nombreuses applications, mais les processus de récupération connus jusqu'à présent n'ont pas

recouru de façon pleinement efficace à cette ambivalence en matière de solubilité. Les mélanges complexes hydrosolubles ont été effectivement isolés mais seulement à l'état impur, d'où il résultait que les produits avaient une faible activité biologique et révélaient également des caractères d'instabilité et d'hygroscopicité.

Les substances flavonoïdes ont été obtenues jusqu'à maintenant à partir d'extraits aqueux ou alcooliques de matière première dérivant d'agrumes, par précipitation sous forme des sels correspondants de métaux alcalins, de métaux alcalino-ferreux et de métaux lourds, de métaux alcalino-ferreux et de métaux alcalins, suivie par la décomposition de ces sels en vue de récupérer les flavonoïdes. La mise en œuvre de tels procédés nécessite des précipitations et reprécipitations nombreuses et compliquées et les produits obtenus contiennent toujours des quantités appréciables de produits non-flavonoïdes co-précipités par les réactifs métalliques.

Les agrumes et leurs extraits alcooliques, après élimination de l'alcool, ont été soumis à l'extraction par deux solvants organiques utilisant un ester de poids moléculaire élevé comme le benzoate d'éthyle qui dissout les matières étrangères ou les substances non flavonoïdes et un ester de poids moléculaire plus faible comme l'acétate d'éthyle pour dissoudre les substances flavonoïdes désirables. Ces extractions en une phase de solvant exigent de grandes quantités de solvant et leur mise en œuvre exige des moyens importants, des séparations, extractions et distillations répétées étant nécessaires pour obtenir finalement un produit pur ayant une faible activité biologique. Les produits impurs ainsi obtenus se présentent comme des poudres instables et hygroscopiques.

L'invention vise l'extraction sélective d'un complexe hydrosoluble de substances biologiquement actives à partir des extraits concentrés aqueux ou

alcooliques de matières contenant des flavonoïdes, tels que ceux qui sont dérivés des matières premières à base d'agrumes.

L'invention vise également la préparation d'un complexe hydrosoluble de substances flavonoïdes qui est essentiellement exempt d'impuretés indésirables comme les hydrates de carbone, les tanins et les phlobaphènes.

L'invention vise également la préparation d'un complexe hydrosoluble de substances flavonoïdes qui soit stable et non hygroscopique et qui possède une activité biologique exceptionnellement élevée.

L'invention vise également l'obtention de substances flavonoïdes hydrosolubles avec des rendements essentiellement plus grands que les rendements possibles jusqu'à maintenant avec les procédés par extraction.

Selon l'invention, des solutions ou dispersions aqueuses concentrées de substances flavonoïdes sont soumises à une extraction sélective dans une phase avec un système initialement à trois phases simultanément avec deux phases de solvant additionnelles séparées qui sont respectivement l'eau et l'alcool n-butylique. Il est souhaitable que l'extraction soit effectuée à contre-courant, et de préférence en continu, bien que l'on envisage aussi des extractions sur des lots séparés et qu'un tel procédé donne des résultats pleinement satisfaisants. En utilisant de l'eau et de l'alcool n-butylique ensemble, mais en tant que phases séparées, il est possible de bénéficier de la bivalence présentée par les substances flavonoïdes désirables au point de vue de la solubilité, de telle sorte que, par suite de leur faible solubilité dans l'eau, voire de leur insolubilité, elles soient extraites préférentiellement par la phase alcool n-butylique et qu'elles se trouvent ainsi séparées de leurs impuretés plus fortement hydrosolubles, lesquelles sont plus solubles dans la phase aqueuse et par conséquent extraites préférentiellement par ladite phase.

Au cours du processus d'extraction, lorsque celui-ci est accompli dans un système à écoulement continu, le concentré aqueux de substances flavonoïdes utilisé comme matière de départ peut finalement se confondre et finalement d'ailleurs se confond effectivement avec la phase aqueuse, de telle sorte que dans le cas de ce genre, il serait également correct de dire que les substances non flavonoïdes sont conservées dans la phase aqueuse, bien qu'indubitablement on peut avoir initialement une extraction desdites substances non flavonoïdes du concentré vers la phase aqueuse indépendante. Cette confusion ultime des deux phases aqueuses a l'avantage, qu'à la fin, il ne reste plus que deux phases à séparer.

Il est essentiel que l'alcool n-butylique soit saturé d'eau et que l'eau soit saturée d'alcool n-butylique avant la venue au contact avec la matière de

départ. Cela permet de prévenir l'absorption dans la phase alcool n-butylique de solution aqueuse contenant des substances non flavonoïdes ce qui affecterait défavorablement le taux de pureté du mélange de substances flavonoïdes, et empêche également les pertes de substance flavonoïde par absorption dans la phase aqueuse d'une fraction de solution dans l'alcool n-butylique contenant de telles substances flavonoïdes. Le mieux est de mettre en œuvre le procédé à contre-courant, autrement dit de faire circuler à contre-courant la phase d'extraction à base d'alcool n-butylique et la phase d'extraction aqueuse, la matière de départ contenant à l'origine les substances flavonoïdes étant interposée en un point quelconque du système de telle façon qu'elle soit étroitement mélangée avec les deux solvants d'extraction.

Les dessins ci-annexés, qui sont fournis à titre purement illustratif, représentent schématiquement deux exemples d'extraction à contre-courant :

La figure 1 étant une représentation schématique d'une extraction fractionnée à contre-courant en phase liquide-liquide selon l'invention, et cela par lots isolés alors que,

La figure 2 est une représentation schématique d'une extraction continue fractionnée à contre-courant entre phases liquides, selon l'invention.

Ainsi que cela a été indiqué plus haut, la phase d'extraction à base d'alcool n-butylique contient à la sortie le complexe hydrosoluble de substances flavonoïdes qu'il s'agit d'isoler. Ces substances sont récupérées par évaporation ou distillation de l'alcool n-butylique et le résidu résultant des opérations susdites peut être séché au moyen de tout appareillage approprié, par exemple un dispositif de séchage par vaporisation ou des appareils fonctionnant sous vide.

Le produit en poudre obtenu par séchage direct du résidu après évaporation de l'alcool n-butylique est solvatisé par de l'alcool butylique et de ce fait il a un point de fusion peu élevé d'environ 60 °C et il est hygroscopique.

L'invention vise également un procédé pour la préparation du complexe hydrosoluble de substances flavonoïdes sous la forme d'une poudre stable non hygroscopique. Ces propriétés sont obtenues en dissolvant dans de l'eau le résidu sec solvatisé par l'alcool n-butylique et en concentrant la solution aqueuse jusqu'à ce que celle-ci ait une teneur en matières solides de 25 à 30 %, opération au cours de laquelle l'alcool n-butylique du produit solvatisé est éliminé azéotropiquement avec l'eau.

On ajoute suffisamment d'eau pour assurer l'élimination de la totalité de l'alcool n-butylique en proportion azéotropique. Le résidu récupéré est alors séché et la poudre obtenue a une température de fusion élevée, supérieure à 110 °C et elle n'est pas hygroscopique.

Le procédé visé par l'invention est applicable à n'importe quelle matière de base comportant des flavonoïdes beaucoup de telles matières étant connues des personnes qui sont familiarisées avec les techniques en cause. Les meilleures matières de départ sont constituées par des déchets contenant des flavonoïdes, par exemple des matières dérivant du traitement des agrumes. Les mélasses d'agrumes, de préférence exemptes de corps solides en suspension, en constituent une forme préférée. Les mélasses d'agrumes sont le sous-produit de l'industrie de transformation des agrumes et sont généralement obtenues par évaporation instantanée des liqueurs de pressage fournies par la pulpe et la pelure des agrumes, et il s'agit là de sous-produits importants dans le traitement des déchets d'agrumes et des déchets de conserveries en vue de leur conversion en fourrage. Les mélasses d'agrumes constituent une matière assez visqueuse et se présentent comme une troisième phase pendant la première partie du processus sélectif continu d'extraction en trois phases selon l'invention, mais pas pendant la totalité de l'accomplissement de ce processus. On peut aussi utiliser directement la liqueur de pressage sans procéder à l'évaporation en dépit du fait que cette liqueur est moins concentrée et ne permet qu'une extraction moins complète. Cette matière de départ a une très faible viscosité, approchant celle de l'eau, et peut se confondre avec la phase aqueuse de l'extraction sélective à un stade précoce de l'extraction continue, mais cela n'affecte pas désavantageusement le cours de l'extraction.

La mise en œuvre de l'invention implique de préférence plusieurs étapes comportant un mélange et une séparation, de telle sorte que le produit de départ soit soumis à deux extractions au moins et de préférence à trois ou plus. Dans le procédé par lots isolés, après séparation, dans chaque étape d'extraction, les phases sont mises en contact, à l'étape suivante, avec des matières de départ fraîches ou avec de la phase aqueuse fraîche ou avec de la phase alcool n-butylique fraîche. Dans le dessin schématique montré par la figure 1, la matière de départ est symbolisée par la lettre F, la phase alcool n-butylique (saturée d'eau) par la lettre B, la phase aqueuse (saturée d'alcool n-butylique) par la lettre W, l'extrait utile dans l'alcool n-butylique (saturé d'eau) par la lettre E et le raffinat aqueux contenant les non flavonoïdes (saturé d'alcool n-butylique) par R. Chaque carré symbolise une opération combinée d'extraction et de séparation. Le procédé montré ici implique neuf extractions de la matière de départ et deux extractions supplémentaires de chacune des phases d'extraits et de chacun des phases raffinées respectivement, après le contact initial avec la matière de départ. Les fractions extrait et raffinat sont recuei-

lies. L'extrait est purifié par élimination de l'alcool n-butylique et si cela est souhaité, par un traitement ultérieur destiné à éliminer l'alcool butylique encore fixé sur le produit sec, les raffinats pouvant être soit traités en vue d'obtenir les substances non flavonoïdes, soit éliminés au choix.

Dans une extraction continue à contre-courant, telle qu'elle est montrée schématiquement sur la figure 2, la phase aqueuse W est amenée à contre-courant au contact de la phase alcool n-butylique B chacune d'entre elles pénétrant à une des extrémités du système, et les phases représentant l'extrait E et le raffinat R sont respectivement soutirées aux deux extrémités du système. La matière de départ F est introduite en n'importe quel point du système. Ainsi que cela est montré ici, elle peut être de préférence introduite en un point intermédiaire entre le point d'introduction de la phase aqueuse et celui de la phase alcool n-butylique, ce qui assure ainsi le contact le plus prolongé possible avec chaque phase d'extraction M avant séparation S. Pour autant que la matière de départ se soit confondue avec les phases d'extraction lorsque l'extraction est terminée, il n'y a pas lieu de prévoir un point séparé pour le soutirage du résidu des matières de départ.

Le système d'extraction selon l'invention utilisant un procédé fractionné à contre-courant à trois phases initiales, exige des volumes notablement plus faibles d'alcool n-butylique et permet d'obtenir une meilleure séparation. Etant donné la présence d'une phase aqueuse dans laquelle les substances non flavonoïdes sont relativement plus solubles que dans l'alcool n-butylique, les substances non flavonoïdes sont transférées en plus grande quantité à la phase aqueuse qu'à la phase alcool n-butylique, d'où il résulte que des quantités plus faibles de substances non flavonoïdes se trouvent dans la phase alcool n-butylique. D'autre part, les substances flavonoïdes dont on désire l'isolement sont extraites sensiblement en totalité par la phase alcool n-butylique étant donné leur plus faible solubilité dans l'eau, voire leur absence de solubilité. Un tel résultat est d'autant plus remarquable, qu'en mélange, les substances flavonoïdes sont effectivement hydrosolubles. Il est donc tout à fait inattendu que ces substances ne soient pas extraites appréciablement par la phase aqueuse qui est présente simultanément. Apparemment la remarquable hydrosolubilité collective des mélanges est moins forte que la solubilité individuelle de leurs composants dans l'alcool n-butylique de sorte qu'en la présence de ce solvant, les substances flavonoïdes se comportent avec leurs caractéristiques de solubilité individuelles. Cette explication reste hypothétique et n'a pas reçu de confirmation d'autre part. Quelle que soit la raison, le procédé selon

l'invention, donne une meilleure extraction et un meilleur produit.

L'extraction sera effectuée au mieux à une température comprise entre 20 et 35 °C. Les substances flavonoïdes sont plus solubles dans l'alcool n-butylique aux températures plus élevées et, par conséquent, aux températures plus élevées il est possible d'utiliser moins d'alcool n-butylique à quantité égale de produit de départ.

Les proportions respectives d'alcool n-butylique et d'eau et leurs quantités relativement à la quantité de produit de départ ne constituent aucunement des facteurs critiques. C'est ainsi qu'en utilisant 2 à 8 volumes d'alcool n-butylique pour 0,5 à 3,5 volumes d'eau et pour 1 volume de mélasse d'agrumes, on a pu obtenir des produits satisfaisants. Si l'on utilise directement une liqueur de pressage, les volumes de solvant utilisés peuvent être plus faibles.

L'extraction est essentiellement terminée à la fin de trois étapes, que ce soit dans le procédé en continu ou dans le procédé par lots isolés, mais on peut utiliser jusqu'à neuf étapes pour garantir l'extraction complète lorsque la matière de départ est très concentrée et contient des quantités relativement importantes des substances flavonoïdes désirées. Des extractions en nombre plus grand peuvent être également nécessaires lorsque la concentration en substances flavonoïdes est essentiellement plus faible que la concentration en substances non flavonoïdes.

Il est clair que les conditions de mise en œuvre du procédé dépendront dans une large mesure du type et de la concentration du produit de départ et, comme celui-ci est fourni par des sources naturelles, sa composition peut varier énormément. Dans ces conditions le mieux est de déterminer les proportions et concentrations relatives de substances flavonoïdes et non flavonoïdes dans le produit de départ, puis de fixer les températures d'extraction, les rapports quantitatifs des solvants et le nombre d'étapes d'extraction en conséquence. La composition de la phase finale contenant l'extrait et de la phase finale dite du « raffinat » peuvent aussi varier en fonction du type et de la concentration du produit de départ et ce facteur devra lui aussi être pris en considération.

Si l'on utilise des mélasses d'agrumes comme produit de départ, selon un mode préféré de mise en œuvre de l'invention, l'extraction est effectuée à une température comprise entre 20 et 25 °C, en trois étapes, avec un volume de mélasses d'agrumes pour 4 volumes d'alcool n-butylique saturé d'eau et 1,25 volume d'eau saturée d'alcool n-butylique et, avec de telles conditions de travail, on obtient une extraction totale.

Les exemples ci-après représentent dans l'opi-

nion des inventeurs les meilleures conditions de mise en œuvre de l'invention.

Exemple 1. — Extraction par lots isolés. — Le produit de départ constitué par des mélasses d'agrumes (100 ml, poids spécifique 1,34) est amené à pH 4 et mélangé par agitation avec 400 ml d'alcool n-butylique saturé avec de l'eau et 125 ml d'eau saturée avec de l'alcool n-butylique. La phase constituée par les mélasses d'agrumes disparaît au cours de l'agitation ce qui laisse deux phases, lesquelles sont séparées et amenées à l'extraction fractionnée à contre-courant en trois étapes ainsi que cela a été illustré schématiquement par la figure 1. en utilisant au total 300 ml de mélasses d'agrumes (100 ml à chaque étape) 1 200 ml d'alcool n-butylique (400 ml à chaque étape) et enfin 375 ml d'eau (125 ml à chaque étape). Les extraits dans l'alcool n-butylique sont mélangés et concentrés sous pression réduite afin d'obtenir un produit sirupeux. De l'eau (50 ml) est ajoutée au produit sirupeux et le mélange est brassé jusqu'à ce qu'il soit homogène. La solution obtenue est évaporée sous pression réduite jusqu'à dessiccation complète et l'on obtient ainsi 16 g d'un complexe flavonoïde se présentant sous la forme d'une poudre brun clair complètement soluble dans l'eau à la concentration de 200 mg par ml. Le produit satisfait à toutes les réactions chimiques typiques des flavonoïdes, présente dans l'ultra-violet un spectre d'absorption qui est caractéristique des flavonoïdes.

Le procédé ci-dessus peut être mis en œuvre à l'échelle industrielle en utilisant des cuves appropriées de mélange et de séparation avec des quantités augmentées en proportion de mélasses d'agrumes, d'eau et d'alcool n-butylique.

Exemple 2. — Extraction continue. — Des mélasses d'agrumes (4,25 l, poids spécifique 1,34) sont amenées à pH 4 et traitées dans une colonne d'extraction continue de type Scheibel par le procédé fractionné à contre-courant montré par la figure 2. Les volumes respectifs de liquide sont maintenus respectivement à 4 volumes d'alcool n-butylique saturé d'eau et 1,25 volume d'eau saturée d'alcool n-butylique par volume de mélasses d'agrumes. L'extrait dans l'alcool n-butylique s'écoulant de la colonne est réduit à l'état de sirop sous pression réduite. De l'eau (700 ml) est adjointe au résidu et le mélange est brassé jusqu'à ce qu'il soit homogène. La solution obtenue est concentrée sous pression réduite jusqu'à une teneur en matières solides d'environ 30 % après quoi le résidu est enlevé de l'évaporateur et séché dans une étuve à vide. On obtient ainsi 228 g de flavonoïdes qui sont soumis avec succès à toutes les réactions chimiques typiques des flavonoïdes, qui présentent dans l'ultra-violet un spectre d'absorption caractéristique des flavonoïdes.

Exemple 3. — Le processus de l'exemple 2 est répété en utilisant directement, sans évaporation, la liqueur de pressage de pulpe et de peau d'agrumes. Le volume d'alcool n-butylique est augmenté de telle sorte que le rapport des quantités respectives de liqueur de pressage, d'alcool n-butylique et d'eau soit de 1 : 5 : 1,25. L'extrait dans l'alcool n-butylique est concentré, redilué avec de l'eau et séché comme dans l'exemple 2 pour donner un produit fini qui est soumis avec succès à toutes les réactions chimiques caractéristiques des flavonoïdes, qui présente un spectre d'absorption dans l'ultra-violet caractéristique des flavonoïdes.

RÉSUMÉ

1° Ce procédé pour extraire sélectivement les mélanges complexes hydrosolubles de substances flavonoïdes à partir de matières de départ contenant de telles substances en mélange avec des substances non-flavonoïdes, par exemple des produits végétaux ou des déchets de produits végétaux, est caractérisé en ce que le produit de départ est amené en contact simultanément avec une phase d'alcool n-butylique et avec une phase aqueuse qui sont séparées, la phase d'alcool n-butylique étant saturée d'eau et la phase aqueuse étant saturée d'alcool n-butylique et en ce que, de la sorte, les substances flavonoïdes hydrosolubles sont dissoutes dans la phase d'alcool n-butylique et les substances non flavonoïdes sont dissoutes dans l'eau, les phases étant ensuite séparées;

2° L'alcool n-butylique et l'eau circulent à contre-

courant, l'un par rapport à l'autre et par rapport aux produits végétaux de départ;

3° Les produits végétaux de départ sont constitués par des produits à base de déchets d'agrumes;

4° Les produits à base de déchets d'agrumes sont des mélasses d'agrumes;

5° Les produits à base de déchets d'agrumes sont constitués par une liqueur de pressage de la pulpe et de la peau d'agrumes;

6° Il est procédé à des extractions multiples en discontinu;

7° L'extraction est effectuée à contre-courant et en continu;

8° Le produit végétal de départ se présente sous la forme d'un concentré aqueux;

9° Le produit végétal de départ se présente sous la forme d'un concentré alcoolique;

10° Une poudre stable non hygroscopique et hydrosoluble d'un complexe de substances flavonoïdes est préparée à partir du complexe impur solvatisé par l'alcool n-butylique par dissolution dudit complexe solvatisé dans l'eau en quantité suffisante pour constituer un mélange azéotropique avec sensiblement la totalité de l'alcool n-butylique jusqu'à ce que sensiblement la totalité de l'alcool n-butylique de l'eau ait été éliminée;

11° Produit complexe hydrosoluble à base de flavonoïdes obtenu par le procédé selon l'invention.

Société dite :

U. S. VITAMIN & PHARMACEUTICAL CORPORATION

Par procuration :

BLÉTRY

N° 1.331.910

Société dite :

2 planches. - Pl. I

U. S. Vitamin & Pharmaceutical Corporation

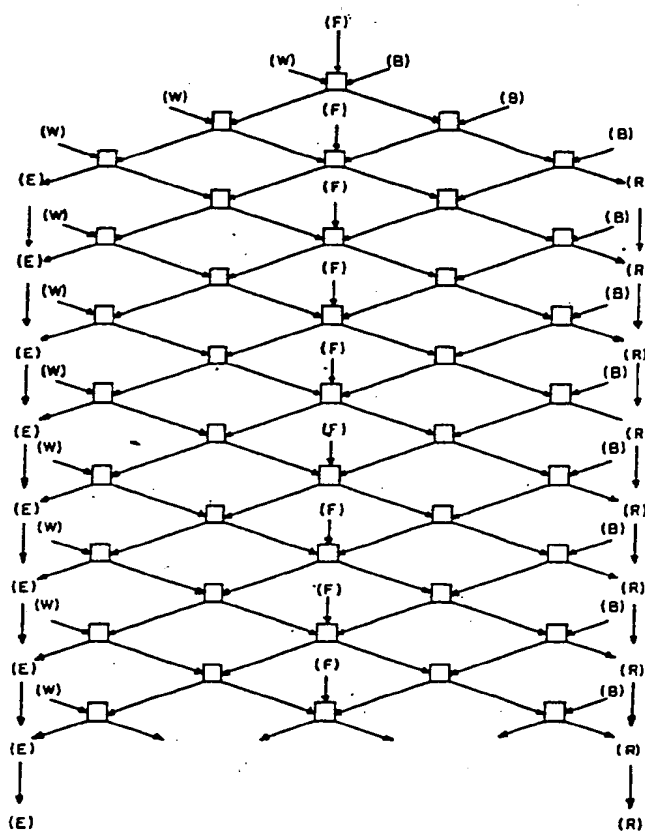


FIG. 1.

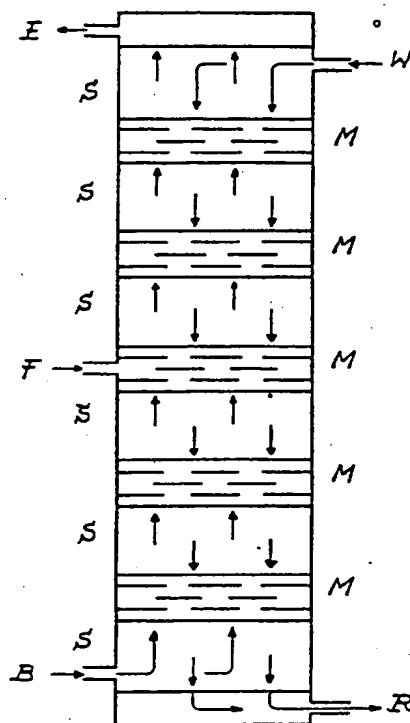


FIG. 2.